


E-PREST-42	Fiche prestation	Date : 08/07/25 Version 6
	Construction de banque gDNA-seq	Page 1/4

La technique d'analyse gDNA-seq est un processus de détermination de l'ordre précis des nucléotides dans une molécule d'ADN.

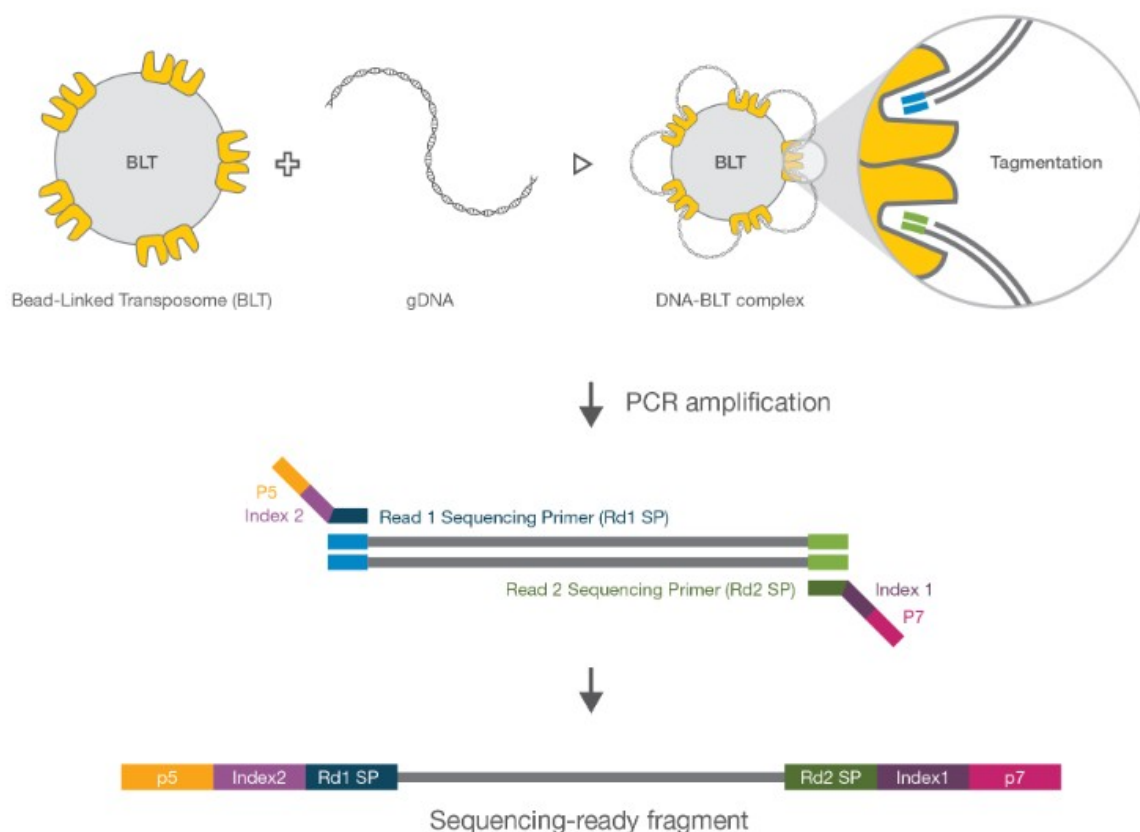
Prestation proposée :


A partir des échantillons fournis par le client, le plateau technique réalise les étapes de contrôle et de validation de l'échantillon par microfluorimétrie. Puis il se charge de la construction des bibliothèques.

Le plateau technique propose 2 modes de construction :

1. Fragmentation par transposase (Kit « Illumina DNA prep. (M) Tagmentation ») :

Dans ce mode de construction, la fragmentation de l'ADN et l'incorporation des adaptateurs se fait en une seule et même étape dite de « tagmentation » grâce à une transposase. Cette étape est suivie d'une amplification par PCR qui permet l'indexage de la bibliothèque.

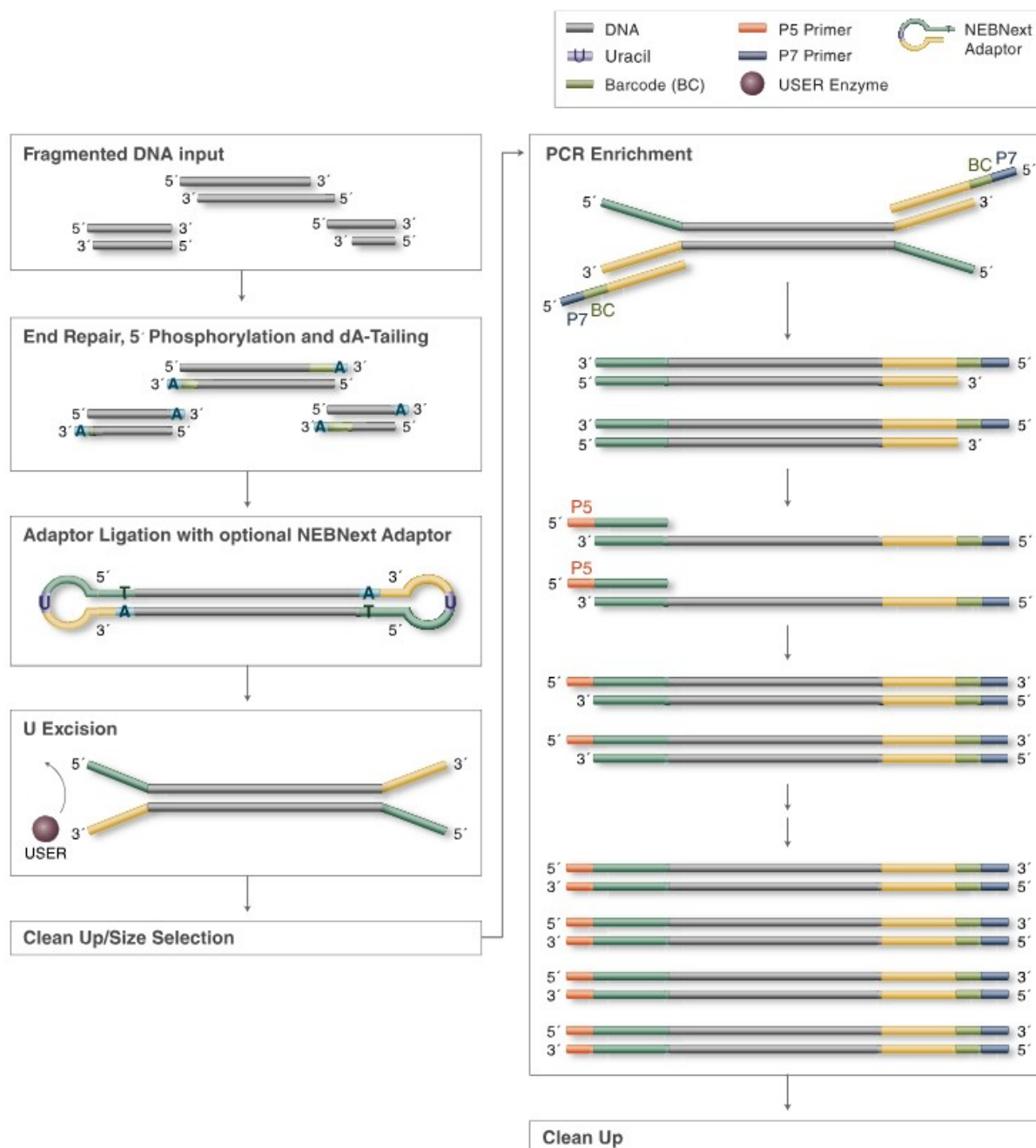


E-PREST-42	Fiche prestation	Date : 08/07/25 Version 6
	Construction de banque gDNA-seq	Page 2/4

2. Fragmentation mécanique :


Ce mode de construction se compose des étapes suivantes :

- Sonication de l'ADN génomique sur Covaris (si non soniqué par le client)
- Construction des banques :



Quel que soit le mode de construction, les librairies sont vérifiées par électrophorèse et validées sur des critères de taille et de concentration.

Les librairies sont ensuite multiplexées si nécessaire.

E-PREST-42	Fiche prestation	Date : 08/07/25 Version 6
	Construction de banque gDNA-seq	Page 3/4

Séquençage :

Le séquençage est réalisé sur NovaSeq (Illumina) / MiSeq (Illumina) par la méthode de Sequence By Synthesis (SBS) .

Cf fiche E-PREST-31 Séquençage Illumina sur NovaSeq.

E-PREST-30 Séquençage Illumina sur MiSeq.

Matériel initial :

ADN génomique				
	Fragmentation par sonication		Tagmentation	
	Quantité	Concentration	Quantité	Concentration
Dosage par microfluorimétrie	400 ng	20 ng/µl	2 ng (bactéries) 200 ng (large genomes)	0,1 ng/µl 10 ng/µl

Les tubes doivent être bien identifiés et correspondre aux informations notées sur la fiche échantillon dont une version vierge sera envoyée par le plateau technique.

Le plateau technique propose des analyses à partir d'un échantillon.


Contrôle qualité :

Tout au long de l'expérimentation, des tests sont réalisés par le personnel habilité pour valider ou non les différentes étapes. Ces tests sont les suivants :

Quantité d'échantillons	
Dosage échantillon	2 ng à 400 ng
Efficacité de la fabrication des banques	
Taille moyenne Concentration	≥ 350 pb ou ≥ 550 pb ≥ 2ng/µl

Gestion du projet :

Tout au long de l'expérimentation, vous pourrez suivre l'avancement du traitement de vos échantillons sur notre gestionnaire de projet (connexion sécurisée avec login et mot de passe). Les différentes étapes du traitement seront validées par l'opérateur séquençage au fur et à mesure de l'avancement.

E-PREST-42	Fiche prestation	Date : 08/07/25 Version 6
	Construction de banque gDNA-seq	Page 4/4

Dans la mesure où le plateau technique constaterait que l'un des contrôles qualité donnés ci-dessus n'est pas rempli, le client sera contacté le plus rapidement possible pour déterminer avec lui la meilleure solution à apporter au problème.

Restitution des résultats

Une fois l'expérimentation terminée et les différentes étapes de contrôle validées, les séquences brutes de vos échantillons sont disponibles sous forme de fichiers texte au format fastq.

Un rapport de contrôle qualité du séquençage est également remis au moment de la livraison des séquences.

Ces données sont récupérables sur un serveur ftp dont le nom et les modalités d'accès vous seront communiquées par mail une fois vos résultats disponibles.

Conditions et durées de conservation des échantillons et des données

Les échantillons d'ADN sont conservés à 20°C dans nos congélateurs, avec un système de congélateur de secours en cas de problème.

Une fois l'analyse réalisée et les données transférées au client, les reliquats d'échantillon et les banques produites seront éliminés.

Analyses complémentaires disponibles

Suite au séquençage, le plateau technique peut vous proposer des prestations d'analyse bio-informatique.

Pour en savoir plus, vous pouvez consulter la fiche prestation en bio-informatique correspondant à votre application ou contacter le plateau technique.